Ueber die Resistenzfähigkeit

der

Typhus- und Cholerabacillen

in der Trocknung.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde

der

hohen medicinischen Facultät der Universität Rostock

vorgelegt

von

Heinrich Haese

approb. Arzt aus Bruel i./M.

Rostock.

Carl Boldt'sche Hof-Buchdruckerei.

1892.

Es gilt heute wohl für die grösste Mehrzahl der Vertreter der medicinischen Wissenschaft als feststehende Thatsache, dass die Uebertragung des Typhusvirus auf den Menschen vorzugsweise vom Verdauungstractus her stattfindet. Wenn auch der pathologische Befund bei allen in frühen Stadien zur Section gekommenen Fällen, wo man ohne Ausnahme die Typhusbacillen nur in den lymphatischen Geweben des Darmes vorfand, mit grosser Wahrscheinlichkeit eine solche Annahme gestattete, so erhielt diese Ansicht doch erst eine sichere Stütze, als die genaue Nachforschung in zahlreichen kleinen und grösseren Typhus-Epidemien mit einer an Gewissheit grenzenden Wahrscheinlichkeit erkennen liess, auf welchem Wege die Bacillen in den menschlichen Körper gelangt waren. Diese Forschung ergab nämlich, dass es entweder Milch oder Wasser waren, die die Verbreitung der Krankheit verursachten, dass also das Virus mit diesen direct in den Verdauungscanal gelangte und von hier aus die Allgemeinerkrankung des Körpers bewirkte. Zweifellos sind nun Milch und Wasser nicht die einzigen Uebertragungsmedien, sondern gelegentlich werden auch andere Getränke oder Speisen, ja auch andere Gegenstände, die zufällig mit dem Munde in Berührung kommen, diese Vermittelung übernehmen. Sehr wahrscheinlich spielen häufiger die inficirten Finger eine solche Rolle. Obgleich derartige Fälle, die eine überzeugende Beweiskraft besitzen, noch immer nicht vorliegen, so legen uns doch Mittheilungen,

wie die von Gietl[1], von Finkler[2] und die von Uffelmann[3] gebrachten diese Vermuthung sehr nahe. Neben diesen Fällen berichtet uns die Literatur aber auch von verschiedenen anderen, wo zwar die Möglichkeit einer Infection durch Nahrungs- und Genussmittel oder durch die Finger nicht absolut ausgeschlossen ist, die uns aber doch die Berechtigung geben, an einen ganz anderen Modus der Uebertragung zu denken, nämlich an die Uebertragung durch die Luft. Wir haben namentlich den Bericht von Gelau[4] im Auge, wo bei sorgfältigster Nachforschung für die Ausbreitung der Krankheit kein anderes ätiologisches Moment ausfindig gemacht werden konnte als die Benutzung von Kleidungsstücken, welche vorher von Typhuskranken getragen worden waren. In diesem Falle ist es doch wohl das Naheliegendste, anzunehmen, dass die Bacillen mit dem Staube eingeathmet wurden, und vom Rachen aus entweder in den Verdauungstractus oder auch in die tieferen Abschnitte der Luftwege gelangten. Es ist schon früher im Jahre 1887 auf das wahrscheinliche Vorkommen einer solchen Infectionsart hingewiesen worden und zwar von Brouardel[5], welcher sagt, er habe aus den Beobachtungen verschiedener Typhusfälle die Ueberzeugung gewonnen, dass das Virus auch durch die Luft übertragen werde. Entscheidend für eine solche Annahme wäre ja der Nachweis lebender Bacillen in der Luft oder auch der Nachweis, dass sich die Bacillen eine Zeit hindurch in Substanzen lebend und entwickelungsfähig halten, die so trocken geworden sind, dass sie bei genügender Zerkleinerung verstäuben können. Lebende Typhusbacillen sind nun in der Luft bis heute nicht entdeckt worden,

---

[1] v. Gietl nach Finkler.

[2] Finkler. Bericht über den 6. Congress für innere Medicin.

[3] Uffelmann. Centralblatt für Bacteriologie 1889, S. 497.

[4] Deutsche militairärztliche Zeitschrift 1887, Heft 6.

[5] Brouardel, Vortrag auf d. Congress f. Hygiene zu Wien. Siehe Uffelmann, Jahresbericht 1887, S. 184.

und dürfte ein solch' glücklicher Fund ja immer sehr vom Zufall abhängig sein, aber auch in Betreff des zweiten Punktes, der Ermittelung der Widerstandsfähigkeit der Bacillen in der Trocknung, wo man doch stets ein bestimmtes Resultat zu erhalten vermag, liegen bis jetzt noch keinerlei ausreichend genaue Versuche vor[1]. Deshalb habe ich auf Veranlassung des Herrn Prof. Dr. Uffelmann es unternommen, zu studiren, ob die Typhusbacillen unter verschiedenen Verhältnissen, wie sie dem täglichen Leben entsprechen, die Trocknung und eventl. wie lange sie dieselbe vertragen.

In Anbetracht der Analogie, welche die Cholera in so vielen Punkten mit dem Typhus zeigt, habe ich meine Versuche auch auf die Cholerabacillen ausgedehnt. Obgleich ja bereits die Eintrocknungsversuche der Cholera-Commission[2] und Wiederholungen dieser Versuche durch andere Autoren[3] und namentlich die sorgfältige Arbeit von Berckholtz[4] über dasselbe Thema vorliegen, so besteht doch keine völlige Uebereinstimmung der Ansichten.

Während die Cholera-Commission und die anderen Autoren, welche diese Versuche wiederholten, das Ergebniss erhalten hatten, dass die Bacillen sich in den eingetrockneten Substraten in der Regel nur 2 bis 3, höchst selten auch wohl 24 Stunden entwickelungsfähig zu halten

---

[1] Während der Herstellung des Manuscripts ging mir eine Arbeit zu von Sirena und Alessi; dieselben fanden, dass Typhusbacillen 64 bis 68 Tage der Trocknung in trockenen und feuchten Räumen, Cholerabacillen derselben 1 Tag 4 Stunden bis 4 Tage in trockenen, bis 12 Tage in feuchten Räumen widerstanden. — La Riforma medic. 1892, No. 14.

[2] Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, Band III, 1887, S. 167.

[3] Nicabi et Rietsch, Recherches sur le choléra 1886, S. 126. Wabson C'heyne. Report on the Cholera-Bacillus. Brit. med. Journ. 1885, S. 879.

[4] Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, Band V, 1889, S. 4.

vermochten, gelangte Berckholtz, der die Versuche in anderer Weise anstellte, zu einem wesentlich anderen Resultate.

Die Cholera-Commission verfuhr so, dass sie die Bacillen auf Deckgläschen bei Zimmertemperatur eintrocknen liess, während Berckholtz sie theils auf Glasscherben brachte, theils auf einer sterilen Glasplatte bald mit Seidenfäden, bald mit Leinewand und schliesslich mit steriler Gartenerde verrieb und dann die Hälfte der Präparate bei Zimmertemperatur, die andere Hälfte im Exsiccator trocknen liess. Auch die Prüfung der eingetrockneten Bacillen hatte er in der Weise modificirt, dass er dieselben, nachdem sie in Bouillon gebracht waren, nicht einfach bei Zimmertemperatur beobachtete, sondern sie durchweg der Brutschranktemperatur von 37° C. aussetzte. Während er durch diese Modificationen der Versuche, wie schon gesagt, zu einem wesentlich anderen Resultat gelangte, konnte er andererseits constatiren, dass die verschiedenen Methoden der Züchtung, Unterschiede im Nährboden, in der Temperatur und in der Zeitdauer, die er in grosser Mannigfaltigkeit bei seinen Culturen in Anwendung gebracht hatte, keinen Einfluss auf die Widerstandsfähigkeit der Bacillen hatten. Von seinen Resultaten seien kurz folgende wiedergegeben:

1) Längste beobachtete Widerstandsfähigkeit einer und derselben Cultur bei dem Eintrocknen:

auf Glasscheiben	an der Luft	6	Tage	(im Exsiccator	16	Tage)
„ Seidenfäden	„	„	15	„	(„	„	38	„)
„ sterilis. Erde	„	„	2	„	(„	„	2	„)
„ Deckgläser	„	„	2	„				

2) Längste beobachtete Widerstandsfähigkeit, welche überhaupt erreicht wurde beim Eintrocknen:

auf Glasscheiben	an der Luft	7	Tage	(im Exsiccator	16	Tage)
„ Seidenfäden	„	„	30	„	(„	„	186	„)
„ sterilis. Erde	„	„	2	„	(„	„	2	„)
„ Deckgläser	„	„	2	„				
„ Leinewand	„	„	5	„	(„	„	39	„)

Seine Ergebnisse sind aber im Allgemeinen sehr wenig gleichmässig. Wir finden neben den höchsten Graden der Widerstandsfähigkeit auch sehr geringe verzeichnet, wo die Bacillen schon nach Stunden zu Grunde gingen.

Die wenigsten Versuche hat Berckholtz angestellt mit Leinewand (3 Versuche) und mit sterilisirter Erde (1 Versuch).

Ich habe nun die Berckholtz'schen Versuche nicht einfach wiederholt, sondern habe sie modificirt, indem ich nämlich stets die thatsächlichen Verhältnisse der Praxis im Auge behalten habe. Ich habe deshalb zur Eintrocknung der Culturen auch Materialien verwandt, von denen man wohl annehmen darf, dass sie auch bei Epidemien am häufigsten als Träger des Virus fungiren, nämlich Erde — aber keine sterilisirte —, Leinewand und Fäces.

Das Nähere wird sich aus der Schilderung der Versuche selbst ergeben.

Auf Anwendung verschiedener Züchtungsmethoden bei den Culturen, die ich verimpft, habe ich verzichtet, weil sich ja aus den Versuchen von Berckholtz mit Bestimmtheit ergiebt, dass sie einen merklichen Einfluss auf die Widerstandsfähigkeit der Bacillen nicht besitzen. Ich habe bei meinen Versuchen Culturen benutzt, die theils in Gelatine, theils in Bouillon und bei Zimmertemperatur gezüchtet waren.

Bei der Prüfung des eingetrockneten Impfmaterials bin ich von dem Verfahren, welches Berckholtz benutzte, in der Weise abgewichen, dass ich es nicht in Bouillon, sondern stets in Gelatine gebracht und alsdann stets einer Temperatur von 15 bis 18° R. ausgesetzt habe.

Schliesslich will ich noch im Voraus bemerken, dass ich sämmtliche Choleraculturen, welche ich zu diesen Versuchen benutzte, vor ihrer Verwendung einer genauen Prüfung auf ihre Lebensfähigkeit hin unterzogen habe.

Dasselbe, was ich soeben für die Choleraversuche

vorausgeschickt habe, gilt auch zum grossen Theil für meine Versuche mit Typhusbacillen. Auch hier habe ich an erster Stelle Rücksicht genommen auf die Verhältnisse der Praxis und habe auch auf verschiedene Züchtungsmethoden der benutzten Culturen kein Gewicht gelegt. Alles Nähere wird die Schilderung der Versuche selbst ergeben.

I. Versuche mit Typhusbacillen.

Am 24. Juli vermengte ich eine geringe Menge Gartenerde, die ich ohne besondere Auswahl dem cultivirten Boden eines Rostocker Gartens entnommen und in einer kleinen Porzellanschale mit Wasser angefeuchtet hatte, mit einer Reincultur von Typhusbacillen. Diese so präparirte Erde, welche also nicht sterilisirt worden war, verstrich ich dann über den grössten Theil der inneren Fläche der kleinen Schale und liess sie trocknen, nachdem ich sie frei der Zimmerluft ausgesetzt hatte. Nach Verlauf von 24 Stunden erschien mir die Erde besonders in den dünneren Randschichten völlig getrocknet. Ich nahm eine sterilisirte Lancette und versuchte einen kleinen Theil dieser besonders trocknen Stellen zu zerreiben, was auch mit Leichtigkeit gelang. Die Masse fiel sofort in die kleinsten Partikelchen auseinander, so dass jeder Zusammenhang und jedes Zusammenkleben, wie es sich bei feuchtem Boden stets findet, vollkommen aufgehoben war. Eine kleine Menge dieser Körnchen, welche also zweifellos lufttrocken waren, nahm ich nun auf eine sterilisirte Lancette und brachte sie in ein Reagensglas, das ungefähr auf $^1/_6$ seines Volumens mit flüssig gemachter und auf Zimmertemperatur abgekühlter, saurer blauer Gelatine gefüllt war. Diese blaue Gelatine ist erst in neuester Zeit von Uffelmann hergestellt worden und eignet sich, wie er gezeigt hat, gut zum Nachweis von Typhusbacillen im Wasser, Boden u. s. w. Ihr grosser Vorzug beruht darin, dass sie neben

den Typhusbacillen nur sehr wenigen Mikroorganismen einen günstigen Nährboden bietet und überdies noch den Typhusbacillen constant ein ganz charakteristisches Wachsthum und eine ganz charakteristische Färbung verleiht, wodurch sie vor vielen anderen deutlich gekennzeichnet sind. Dieser erstgenannte Vorzug gründet sich auf die Eigenschaft der Typhusbacillen, dass sie einen ziemlich hohen Säuregrad vertragen. Ihre Herstellung ist jetzt folgende: Die gewöhnlich schwach alkalische Fleischwasserpepton-Gelatine wird mit so viel Citronensäure versetzt, dass 10 ccm der Gelatine durch 10 ccm einer Lösung von 5,3 Natrium carbonicum in 1000,0 Wasser genau neutralisirt werden. Darauf filtrirt man, erhält aber kein ganz klares Filtrat, setzt zu 100 ccm = 2,0 mg Methylviolett, das mit 1 Tropfen Alcohol. absolutus und 1 ccm Aqua destillata verrieben war, füllt in sterile Gläser und erhitzt in strömendem Dampfe einmal 15 Minuten. Jedesmal wird diese so bereitete Gelatine vor ihrem Gebrauche darauf untersucht, ob auch Typhusbacillen darin wachsen, weil leicht kleine Fehler bei der Bereitung unterlaufen können, ein Zuviel an Säure und Farbstoff aber das Wachsthum beeinträchtigt oder aufhebt.

Ich habe, wie ich gleich im Voraus bemerken will, diese blaue Gelatine auch bei allen späteren Prüfungen der eingetrockneten, mit Typhusbacillen inficirten Substraten angewendet, und sie hat sich vorzüglich bewährt.

Nachdem ich die Bodentheilchen in dieser Gelatine sorgfältig vertheilt, rollte ich dieselbe an der Innenwand des Reagensglases aus, während ich sie gleichzeitig unter dem laufenden Strahl des Leitungswassers zur Gerinnung brachte, d. h. ich machte die bekannte Esmarch'sche Rollcultur. Diese Rollcultur liess ich nun bei einer Temperatur von 15 bis 18° R. liegen.

Nach 48 Stunden, wo ich die Cultur wieder besichtigte, vermochte ich unter den verschiedenen Arten von Colonien, die sich entwickelt hatten, mit Hülfe der Lupe mit grosser

Bestimmtheit mehrere zu unterscheiden, welche jenes charakteristische Wachsthum und jene charakteristische Färbung der Typhuscolonien zeigten, welche sie in der Uffelmann'schen Gelatine anzunehmen pflegen. Ich unterwarf diese auf Typhus verdächtigen Colonien nun einer näheren bacteriologischen Untersuchung, die ich in folgender Weise anstellte: Mit einer sterilen Platinnadel entnahm ich ein wenig aus einer Colonie und verimpfte Theilchen davon auf eine sterile, sauer reagirende Kartoffelscheibe, andere Theilchen auf ein reines Deckgläschen. Die Kartoffelscheibe brachte ich in eine feuchte Glaskammer, welche bei 20° gehalten wurde, und verfolgte nun, ob und in welcher Weise sich die Organismen entwickelten. Die auf das Deckgläschen gebrachten Theilchen verrührte ich mit etwas sterilem Wasser und beobachtete im hängenden Tropfen die Form und die Beweglichkeit der Bacillen. Nachdem ich mich hierüber informirt, liess ich dasselbe Präparat lufttrocken werden, färbte es mit Gentianablau und besichtigte von neuem. Eine vierte Untersuchung machte ich, indem ich von einer zweiten Colonie ein wenig zu einer Stichcultur benutzte. Durch diese 4 Proben kam ich zu dem sicheren Ergebniss, dass die Colonien, die ich vor mir hatte, echte Typhuscolonien waren. Die Bacillen nämlich, die sie enthielten, waren beweglich, waren schlanke Stäbchen von der Form und Grösse der Typhusbacillen und wuchsen in der Stichcultur und auf der Kartoffelscheibe in der für Typhusbacillen charakteristischen Weise.

Eine zweite Rollcultur, die ich zu derselben Zeit und auf ganz gleiche Weise zur Controle angefertigt hatte, ergab dasselbe Resultat.

Ich will nun vorweg bemerken, dass bei allen Rollculturen, die ich bei den hier zu schildernden Versuchen auf Typhusbacillen geprüft habe, stets diese vier Untersuchungsmethoden in Anwendung gebracht habe, dass also über die Sicherheit der Diagnose kein Zweifel herrschen kann.

Am 27. Juli, nachdem also die Erde in der Porzellanschale bereits 3 Tage der Trocknung ausgesetzt war, legte ich mit derselben zwei neue Rollculturen an. Ich verfuhr dabei in genau derselben Weise, wie oben beschrieben, und benutzte wiederum Erdtheilchen, welche besonders dünn gelagert waren, obgleich ich nach allen äusseren Merkmalen sicher annehmen konnte, dass bereits die ganze Erdmasse völlig lufttrocken geworden war. Die Farbe nämlich war überall gleichmässig grau geworden, und wo ich auch immer mit der Lancette die Masse zu zerreiben versuchte, fiel sie sofort in Staubpartikelchen auseinander. Diese beiden Rollculturen boten nach 2 Tagen, wo ich sie untersuchte, ein ganz ähnliches Bild wie die früheren. Ich konnte wiederum deutlich mehrere Colonien mit dem charakteristischen Wachsthum der Typhusbacillen unterscheiden. Ihre nähere bacteriologische Untersuchung ergab denn auch durch alle Proben, dass es echte Typhusbacillen waren.

Ganz gleiche Culturen habe ich mit diesem Boden noch angelegt am 29. Juli, am 1., am 4., am 6. und zum Schluss am 9. August, wo er also im ganzen 16 Tage gestanden hatte. In allen Culturen ohne Ausnahme entwickelten sich Colonien, die sich bei der näheren Prüfung als echte Typhusbacillen erwiesen.

Weitere Rollculturen habe ich mit diesem Bodenmaterial nicht angelegt, weil mir Gelegenheit gegeben wurde, einen anderen Boden zu untersuchen, in dem die Bacillen eine bedeutend längere Zeit der Trocknung ausgesetzt gewesen waren. Es wurde mir nämlich in einem Glasgefäss etwas Gartenerde zur Verfügung gestellt, die bereits vor vollen 4 Monaten künstlich mit einer Typhuscultur inficirt worden war und nun diese ganze Zeit hindurch in einem Schrank des Laboratoriums, vor Sonne geschützt, gestanden hatte. Der Boden, von dem ich noch bemerken will, das er gleichfalls nicht sterilisirt worden war, war zuerst nur schwach feucht gewesen und demnach

ohne Zweifel wenigstens nahezu 4 Monate lang vollkommen ausgetrocknet. Ich legte zwei Rollculturen an mit Uffelmann'scher Gelatine. In beiden Culturen constatirte die nähere bacteriologische Untersuchung echte Typhusbacillen.

Zwei andere Rollculturen, die ich anfertigte, ergaben gleichfalls ein positives Resultat.

Weitere Eintrocknungsversuche auf Bodenmaterial haben daraufhin nicht stattgefunden.

Am 14. Juli war ein Quantum dünnflüssigen Stuhls mit einer Reincultur von Typhusbacillen vermischt und von diesem Gemenge ein geringer Theil auf ein Stückchen gewöhnlicher Leinewand, wie sie als Leibwäsche benutzt wird, gebracht worden. Der Stuhl war sehr dünnflüssig gewesen und auch so dünn auf die Leinewand gestrichen worden, dass man makroskopisch grössere Anhäufungen von Fäcesmassen auf derselben kaum zu entdecken vermochte, sondern die imprägnirten Stellen sich nur als gelbe Flecken markirten. Diese Leinewand hatte bereits 14 Tage frei in einer offenen Schüssel in einem Schrank des Laboratoriums gelegen, und von der Feuchtigkeit, die sich zu Anfang an den mit Fäces beschmutzten Partien befunden, war jegliche Spur vollkommen verschwunden. Aus einer solchen mit Fäces bestrichenen Stelle schnitt ich nun mit einem sterilen Locheisen 2 kleine Stückchen heraus, zerzupfte dieselben auf einer sterilen Platte mit sterilen Instrumenten und machte in der bekannten Weise mit blauer Gelatine zwei Rollculturen aus der zerzupften Masse.

In beiden Culturen entwickelten sich schon nach 2 Tagen deutlich sichtbare Colonien, die sich durch alle Proben als solche von Typhusbacillen offenbarten.

Acht Tage später, nachdem die Leinewand bereits 3 Wochen, und nochmals 8 Tage später, nachdem die Leinewand 4 Wochen frei in dem Zimmer gelegen hatte, schnitt ich wiederum 2 kleine Stücke aus den beschmutzten

Stellen aus, zerzupfte sie auf einer sterilen Platte mit sterilen Instrumenten und legte neue Rollculturen an. Auch in diesen Culturen entwickelten sich ohne Ausnahme echte Typhusbacillen.

Ein fast gleiches Experiment stellte ich an, indem ich statt der Leinewand ein Stück Verbandgaze benutzte und es mit solchen künstlich hergestellten „Typhus-Fäces" bestrich; die Fäces wurden in diesem Falle etwas dicker aufgetragen. Diese Gaze setzte ich gleichfalls in einer offenen Schüssel innerhalb eines Schrankes der Luft aus. Nach 10 Tagen, wo also schon längst eine vollkommene Trocknung der feucht gewesenen Partien erfolgt war, legte ich in gleicher Weise wie vorher mit zerzupften Theilchen dieser beschmutzten Gaze die ersten Rollculturen an. Die Typhusbacillen erwiesen sich in diesen Culturen sehr lebensfähig und traten in einer grossen Anzahl von Colonien auf. Auch 8 Tage später, wo ich wiederum zerzupfte Stückchen dieser Gaze zu Culturen benutzte, also nach 18tägiger Austrocknung, gelangte ich zu demselben Resultat. Ich konnte wiederum mehrere Colonien echter Typhusbacillen in beiden Culturen nachweisen.

Zwei weitere Versuche, welche uns eine gleich grosse Widerstandskraft der Bacillen offenbaren, wie wir sie schon bei der Eintrocknung auf Bodenmaterial kennen gelernt haben, mögen den Beschluss unserer Versuche mit diesem Krankheitserreger bilden.

Am 12. August wurde mir in einer Porzellanschale ein Quantum Fäces zur Verfügung gestellt, die schon vor 3 Monaten in dünnflüssigem Zustand mit einer Reincultur von Typhusbacillen vermengt worden waren und diese Zeit hindurch frei in einem Schrank des Instituts zur Austrocknung gestanden hatten. Der Stuhl war in ziemlich dünner Lage über die innere Fläche der Schüssel verstrichen worden und haftete nun wie eine trockne feste Kruste an ihr. Ich nahm eine sterilisirte Lanzette, kratzte von der Oberfläche mehrere Partikelchen ab und

legte wiederum in vorher angegebener Weise mit blauer Gelatine zwei Culturen an. Am zweiten Tage vermochte ich mit der Lupe noch keine auf Typhus verdächtige Colonien zu erblicken, aber am dritten Tage entdeckte ich in der einen Cultur am Rande eines Fäcalpartikelchens, welches wegen seiner grossen Härte nicht genügend zertheilt worden war, drei ganz charakteristisch gewachsene und gefärbte Colonien, welche die nähere Untersuchung denn auch als aus Typhusbacillen bestehend nachwies. In der anderen Cultur vermochte ich auch späterhin keine Colonien zu entdecken. Dies hat seinen Grund sehr wahrscheinlich darin, dass überhaupt keine Fäces in dieser zweiten Cultur vorhanden waren.

Bei der Herstellung der ersten Cultur glaubte ich nämlich in dem Reagensglase etwas zu viel Gelatine zu haben und hatte deshalb, nachdem schon die Fäcestheilchen hinzugefügt waren, die zweite Cultur so hergestellt, dass ich aus dem ersten Glase einen Theil seines Inhaltes in das zweite goss. Wegen der nicht recht genügenden Zerkleinerung der sehr harten Fäces ist wahrscheinlich bei dieser Manipulation nur wenig oder gar nichts davon in das zweite Glas gelangt.

Zwei neue Culturen mit denselben Fäces, bei deren Anfertigung ich eine grössere Sorgfalt auf die Zerkleinerung und Vertheilung der abgekratzten Kothmasse verwendete, ergaben beide ein positives Resultat; in beiden konnte ich eine Reihe echter Typhuscolonien nachweisen.

Den zweiten Versuch stellte ich gleichfalls mit Fäces an, welche künstlich mit Typhusbacillen inficirt waren, die aber nicht drei, sondern schon vier Monate in einem offenen Glasgefäss in einem Schrank des Instituts gestanden hatten. Dieselben waren zu mehreren harten Ballen von ungefähr Haselnussgrösse zusammengetrocknet.

In allen 4 Culturen, die ich in der eben beschriebenen Weise mit diesen Fäces anlegte, entwickelten sich mehrere Colonien, die die nähere Untersuchung als solche von Typhusbacillen bestätigte.

II. Versuche mit Cholerabacillen.

Diese Versuche mit Cholerabacillen sind in ähnlicher Weise wie die eben besprochenen Typhusversuche angeordnet und ausgeführt worden, und ich kann mich deshalb in der Schilderung derselben etwas kürzer fassen.

Als erstes Material, auf dem ich die Bacillen eintrocknen liess, benutzte ich auch hier unsterilisirte Gartenerde, und zwar brachte ich wiederum eine ganz geringe Menge davon in eine kleine Porzellanschale, vertheilte sie möglichst dünne darin, begoss sie mit einem Theil einer Reincultur von Cholerabacillen in Bouillon und liess sie in einem Schrank bei Zimmertemperatur stehen. Von der Bouilloncultur hatte ich soviel genommen, dass die Erde in allen ihren Theilen völlig durchfeuchtet war. Von solchen Präparaten fertigte ich nach und nach im Verlaufe mehrerer Wochen 6 an und zwar von 6 verschiedenen Cholera-Culturen, welche sich in Controlculturen, die von ihnen angelegt wurden, sämmtlich als lebensfähig erwiesen hatten.

Das erste Präparat liess ich 48 Stunden unberührt stehen; alsdann stellte ich in genau derselben Weise wie früher mit dem Typhusboden zwei Rollculturen her, zerrieb mit einer sterilen Lancette eine trockne Stelle u. s. w., nur verimpfte ich die eingetrockneten Bacillen jetzt auf gewöhnliche Nährgelatine. Nachdem die Culturen 2 Tage bei Zimmertemperatur gelegen hatten, untersuchte ich sie mit der Lupe und entdeckte in beiden unter den verschiedenen Arten von Mikroorganismen, die sich entwickelt hatten, eine Reihe von Colonien, die genau die Form und das Wachsthum solcher von Cholerabacillen zeigten. Bei der zur sicheren Diagnose nothwendigen bacteriologischen Untersuchung dieser verdächtigen Colonien benutzte ich zum grössten Theil dieselben Methoden, die auch schon bei der Prüfung der eingetrockneten Typhusbacillen in Anwendung gekommen waren; ich untersuchte nämlich im hängenden Tropfen, im gefärbten Präparat und beobachtete

das Wachsthum der Organismen in der Stichcultur. Ausserdem aber führte ich noch die Bujwid-Dunham'sche Reaction aus. Mittelst einer sterilen Platinnadel brachte ich ein wenig aus einer Colonie in eine 1% Peptonlösung. Diese Lösung liess ich darauf in einem Reagensglase 24 Stunden bei Zimmerwärme verschlossen stehen, lüftete alsdann den Wattebausch, liess am Rande des Glases concentrirte Schwefelsäure hinabfliessen und beobachtete nun, ob sich oberhalb der am Boden sich sammelnden Schwefelsäure in der unteren Schicht der Peptonlösung die für Cholera charakteristische rothe Färbung zeigte. Mit Hülfe dieser vier Untersuchungsmethoden konnte ich zweifellos sicher constatiren, dass diese auf Cholera verdächtigen Colonien auch wirklich echte Choleracolonien waren. Sie enthielten nämlich Bacillen in der Form der Kommabacillen, wuchsen in der Stichcultur in der für Cholerabacillen charakteristischen Weise und lieferten bei der Bujwid-Dunham'schen Reaction auch die charakteristische rothe Färbung.

Im Voraus will ich gleich bemerken, dass auch in allen späteren Fällen zur endgültigen Diagnose, ob die verdächtigen Colonien auch wirklich echte Cholerabacillen enthielten, stets diese vier Untersuchungsmethoden ausgeführt wurden.

In diesem ersten Bodenpräparat erwiesen sich also die Bacillen nach 48stündiger Trocknung noch entwicklungsfähig. Ich legte mit demselben dann noch weitere Rollculturen an am 3., 4., 6. Tage und konnte constant in allen lebende Cholerabacillen nachweisen. In den folgenden Rollculturen jedoch, von denen die nächsten am 8. Tage angefertigt wurden, konnte ich auch bei der sorgfältigsten Prüfung keine Choleracolonien mehr entdecken. Die Cholerabacillen waren also zwischen dem 6. und 8. Tage abgestorben.

Von dem zweiten Bodenpräparat, das ich darauf anfertigte, legte ich Rollculturen an nach 1 Stunde, nach

6 und nach 24 Stunden und erhielt bis dahin ein positives Resultat. In den nächsten Rollculturen, die nach 48 Stunden angelegt wurden, und in den weiter folgenden war das Ergebniss ein negatives. Die Bacillen waren also in dem Boden in der Zeit zwischen der 24. und 48. Stunde abgestorben,

Bei dem dritten Präparat erhielt ich ganz dasselbe Resultat. Die Bacillen lebten länger als 24 und weniger als 48 Stunden.

In dem vierten Präparat hielten sich die Bacillen länger als 2 und weniger als 6 Stunden.

In dem fünften Präparat ergaben die Rollculturen, die nach 1 Stunde angelegt waren, ein positives, die nach 6 Stunden angelegt waren, aber schon ein negatives Resultat. Auch spätere Rollculturen änderten nichts an dem Ergebniss.

Im sechsten Präparat lebten die Bacillen noch nach 6 Stunden, nach 24 Stunden waren sie zu Grunde gegangen.

Wir sehen also schon an diesen Versuchen, was auch Berckholtz bei den seinigen gefunden hatte, dass die Ergebnisse im Allgemeinen sehr unregelmässige sind. Während die eine Choleracultur 6 Tage lang der Austrocknung widersteht, stirbt die andere schon vor Ablauf der 6. Stunde ab.

Als zweites Material, auf dem ich die Bacillen eintrocknete, habe ich Leinewand benutzt, wie sie als Leibwäsche getragen zu werden werden pflegt. Ein Stück von Handtellergrösse feuchtete ich an mehreren Stellen mit einer Choleracultur an und liess es in einer offenen Schüssel in einem Schranke bei Zimmerwärme stehen. Aus den imprägnirten Stellen, die ungefähr die Grösse eines Markstückes besitzen mochten, schnitt ich dann später mit einem sterilen Locheisen kleine Stückchen aus, zerzupfte diese mit sterilen Instrumenten und brachte die zerzupfte Masse in Gelatine, die ich dann ausrollte.

Solche Rollculturen fertigte ich an nach 1 Stunde Trocknung, nach 6, nach 24, nach 48, nach 72 Stunden und noch später. In allen Culturen, die im Verlaufe der ersten 48 Stunden angelegt wurden, entwickelten sich, wie die Prüfung ergab, Choleracolonien; alle später folgenden Culturen ergaben ein negatives Resultat. Die Bacillen waren also zwischen der 48ten und 72ten Stunde abgestorben.

Diesen Versuch habe ich darauf noch zweimal in ganz derselben Weise wiederholt. Ich imprägnirte zwei neue Leinenstücke mit zwei neuen Reinculturen und stellte die Rollculturen in gleicher Weise und auch in den gleichen Zeitabschnitten wie die früheren her.

Bei dem ersten Versuch ergab sich, dass die Bacillen länger als 6 und weniger als 24 Stunden der Trocknung widerstanden; bei dem zweiten lebten sie länger als 24 und weniger als 48 Stunden.

In dritter und letzter Versuchsreihe habe ich dann Cholerabacillen auf Fäces verimpft und ihre Widerstandskraft auf diesem Material geprüft.

Eine geringe Menge frischen diarrhoischen Stuhls vermischte ich in einer Porzellanschale mit etwas Gelatinecultur und setzte diese dann in einem Schrank der Luft aus. Nach Verlauf von einer Stunde kratzte ich von einer besonders eingetrockneten Stelle ein wenig mit einer sterilen Lancette ab und legte mit der abgekratzten Masse ganz wie früher mehrere Rollculturen an.

In diesen Rollculturen entwickelten sich eine ganze Reihe von Colonien, die sich als solche von Cholerabacillen erwiesen.

Zwei andere Rollculturen jedoch, die 5 Stunden später in ganz derselben Weise angefertigt wurden, zeigten keine lebenden Bacillen mehr.

Ein zweites Präparat, das mehrere Tage später aus einem anderen Stuhl und aus einer anderen Reincultur hergestellt worden war, führte zu ganz demselben Resultat.

Rollculturen nämlich, die nach 1 Stunde angelegt waren, ergaben ein positives Resultat; Rollculturen, die nach 6 Stunden angefertigt waren, ein negatives.

Darauf modificirte ich diesen Versuch in folgender Weise: Ich vermischte wiederum in einer Porzellanschale etwas diarrhoischen Stuhl mit einer geringen Menge einer Reincultur, liess denselben dann aber nicht in dieser Schüssel stehen, sondern brachte ihn auf ein Stück Leinewand, wie ich sie schon zu den früheren Versuchen benutzt hatte, faltete die Leinewand mit den daran haftenden Fäces zusammen und verpackte sie unter anderen Zeugstoffen in einer kleinen Kiste, die ich mit einem Deckel verschlossen im Zimmer stehen liess. Ich versuchte also hier Verhältnisse zu schaffen, wie sie wohl häufig in der Praxis vorkommen dürften. Nach Verlauf von 24 Stunden holte ich die Leinewand wieder aus der Kiste hervor, kratzte ein wenig angetrockneten Stuhl ab und legte damit in vorher angegebener Weise zwei Rollculturen an.

Beide Rollculturen ergaben später ein positives Resultat.

Die Leinewand verpackte ich dann wieder in der vorher geschilderten Weise und liess sie wiederum 1 Tag in der Kiste liegen.

In den jetzt angefertigten Rollculturen entwickelten sich keine Choleracolonien mehr. Auch weitere Rollculturen, die angelegt wurden, führten zu einem negativen Resultat.

Zum Schluss wurde mir noch Gelegenheit gegeben, einen Stuhl zu untersuchen, der bereits vor 4 Monaten mit einer Cholerareincultur vermengt worden war. Derselbe hatte diese Zeit hindurch in einem Schrank in einem mit Watte verschlossenen Glasgefäss gestanden und war nun zu einer harten Kruste zusammengetrocknet.

Ich legte mehrere Rollculturen mit diesen Fäces an, wobei ich in vorerwähnter Weise vorging. In keiner einzigen jedoch entwickelten sich Cholerabacillen.

Die Ergebnisse meiner Studien sind also kurz zusammengefasst folgende:

Die Typhusbacillen widerstehen der Austrocknung in der Regel sehr lange und können volle vier Monate in dem eingetrockneten Substrate leben. Die Cholerabacillen gehen in der Regel schon nach kurzer Zeit zu Grunde. Die Zeit ihres Widerstandes schwankt zwischen 1 bis 48 Stunden. Eine einzige Cultur, die auf Bodenmaterial getrocknet wurde, hat sich ausnahmsweise lange gehalten und zwar 6 Tage lang.

Zum Schluss erfülle ich die angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. Uffelmann für die Anregung zu dieser Arbeit und für die Unterstützung bei derselben meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.